

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年11月 8日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-340731

出 願 人

Applicant(s):

住友ゴム工業株式会社  
花王株式会社



2001年 9月20日

特 許 庁 長 官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

及 川 耕 造

出証番号 出証特2001-3086925

【書類名】 特許願

【整理番号】 104690

【提出日】 平成12年11月 8日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C08C 1/04

【発明者】

    【住所又は居所】 兵庫県神戸市中央区脇浜町3丁目6番9号 住友ゴム工業株式会社内

    【氏名】 市川 直哉

【発明者】

    【住所又は居所】 兵庫県神戸市中央区脇浜町3丁目6番9号 住友ゴム工業株式会社内

    【氏名】 宮本 芳明

【発明者】

    【住所又は居所】 東京都墨田区文花2-1-3 花王株式会社墨田事業場内

    【氏名】 林 正治

【特許出願人】

    【識別番号】 000183233

    【住所又は居所】 兵庫県神戸市中央区脇浜町3丁目6番9号

    【氏名又は名称】 住友ゴム工業株式会社

【特許出願人】

    【識別番号】 000000918

    【住所又は居所】 東京都中央区日本橋茅場町一丁目14番10号

    【氏名又は名称】 花王株式会社

【代理人】

    【識別番号】 100075155

    【弁理士】

    【氏名又は名称】 亀井 弘勝

【選任した代理人】

【識別番号】 100087701

【弁理士】

【氏名又は名称】 稲岡 耕作

【選任した代理人】

【識別番号】 100101328

【弁理士】

【氏名又は名称】 川崎 実夫

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 010799

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9401973

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 脱蛋白天然ゴム

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

蛋白質の分解、除去処理が施された天然ゴムであって、  
蛋白質の含有量が窒素含有量において 0. 0 2 % 以下のレベルであり、  
赤外線吸収スペクトルにおいて  $3\,280\text{ cm}^{-1}$  の吸収が認められず、かつ、  
数平均分子量が 4 5 0 0 以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出されない  
ことを特徴とする脱蛋白天然ゴム。

【請求項 2】

数平均分子量が 1 5 0 0 以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出されない  
請求項 1 記載の脱蛋白天然ゴム。

【請求項 3】

ヒト血清中に I g E クラスの抗体を産生させるアレルゲン性蛋白の含有量指数  
が  $10\text{ }\mu\text{g/g}$  以下である請求項 1 または 2 記載の脱蛋白天然ゴム。

【請求項 4】

前記アレルゲン性蛋白の含有量指数が  $5\text{ }\mu\text{g/g}$  以下である請求項 3 記載の脱  
蛋白天然ゴム。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明はアレルギーを誘発するおそれをほとんど有しない脱蛋白天然ゴムに関  
する。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

天然ゴムは伸びが大きい、弾性が高い、皮膜の強さが良好である等の特徴を有  
することから、手袋等の家庭用品、手術用手袋、各種カテーテル等の医療用具、  
授乳用具、避妊具等に幅広く利用されている。一方、天然ゴムからなる手術用手  
袋、カテーテル等の医療用具を使用すると、呼吸困難やアナフィラキシー様症状

（血管性浮腫、じんましん、チアノーゼ等）などの即時型（Ⅰ型）アレルギーを引き起こす場合のあることが報告されており、かかる即時型アレルギーは天然ゴムに含まれる蛋白質が抗原となって誘発されるものと推測されている。

#### 【0003】

そこで、近年、天然ゴム中の蛋白質を高度に除去することが試みられており、特許第2905005号（特開平6-56902号公報）には、天然ゴムラテックス中にアルカリプロテアーゼ等の蛋白分解酵素と、界面活性剤とを加えて蛋白分解処理を施し、次いで遠心分離処理等によってラテックスを十分に洗浄する方法が提案されている。

上記特許公報に記載の方法によれば、天然ゴム中の蛋白質を高いレベルで分解、除去することができ、具体的には、天然ゴムに含まれる蛋白質の量をケルダール法（Kjeldahl's method）による窒素含有量（N%）で表したときに、0.02%以下の極めて低い値とすることができる。なお、一般に天然ゴムは、その数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が100万～250万の高分子量成分と、10万～20万の低分子量成分との混合体であって、前者の高分子量成分は、低分子量成分が天然ゴムに含まれているペプチド分子等を介して相互に結合したものと推測されている。ここで、本来の生合成で生成したと考えられる低分子量成分の分子量を10万とし、この低分子量成分のゴム1分子に対して分子間結合に介在するペプチド分子が1分子、すなわち窒素原子（原子量14）が1原子結合したと仮定すると、天然ゴムの窒素含有量が0.014%となる。従って、たとえ高度な脱蛋白処理を施したとしても不可避免的に0.02%程度の窒素は残存すると考えられる。

#### 【0004】

また、上記公報に記載の方法で脱蛋白処理を施した場合、処理後の天然ゴムラテックスを用いて成膜されたゴムフィルムからは、ポリペプチドに特有な $3280^{-1} \text{ cm}$ の赤外吸収スペクトルが観察されない。従って、上記公報に記載の方法によれば、蛋白質の分解・除去が高度に達成されていることがわかる。

#### 【0005】

#### 【発明が解決しようとする課題】

しかしながら、上記公報に記載の方法をはじめとする従来公知の種々の脱蛋白

処理を経て蛋白質を分解、除去した場合であっても、依然として、アレルギー性を示すおそれのあることが、最近の研究により明らかとなった。

そこで本発明者らは、

(i) 従来の方法による脱蛋白処理が施された天然ゴムラテックス中にどの程度の蛋白質およびその分解物が残存しているのかを確認すべく、飛行時間 (T O F) 型質量分析計と二次元表面修飾チップとを組み合わせた蛋白質の解析システムによって分析するとともに、

(ii) 従来の方法による脱蛋白処理が施された天然ゴムラテックスのアレルギー性について確認すべく、パッチテスト等による従来のインビボ (in vivo) での測定に代えて、ヒト患者の血清を用いた抗原-抗体反応に基づくインビトロ (in vitro) での測定を行った。

#### 【 0 0 0 6 】

その結果、従来の方法によって脱蛋白処理を施した場合であっても、

(I) 数平均分子量  $\langle M_n \rangle$  が 4 5 0 0 ~ 4 7 0 0 程度である蛋白質または蛋白質分解物が残存しており、蛋白質が十分に分解されていないこと、しかも、

(II) 脱蛋白処理後においても、即時型アレルギーを誘発するのに十分な量のアレルギー性蛋白が含まれていること、

が明らかとなった。

#### 【 0 0 0 7 】

なお、「アレルギー性蛋白」とは、本発明において以下のように定義される。天然ゴムラテックスの試料中に存在する全ての蛋白質およびその分解物（以下、「全蛋白」という。）中には、ヒト血清中に抗体を産生し得る「抗原蛋白」の群が含まれる。また、ヒト血清中に産生する抗体は、アレルギー反応を誘発し得る I g E クラスの抗体と、アレルギー反応を誘発しない I g E クラスの抗体とに分類される。ここで、「抗原蛋白」の中で、アレルギー反応の原因となり得る I g E クラスの抗体を産生する抗原蛋白については、他の抗原蛋白と区別するために「アレルギー性蛋白」と称する。

#### 【 0 0 0 8 】

そこで本発明の目的は、蛋白質の分解・除去の程度が高く、アレルギーを誘発

するおそれの極めて低い脱蛋白天然ゴムを提供することである。

【0009】

【課題を解決するための手段および発明の効果】

本発明の脱蛋白天然ゴムは、蛋白質の分解、除去処理が施された天然ゴムであって、蛋白質の含有量が窒素含有量において0.02%以下のレベルであり、赤外線吸収スペクトルにおいて $3280\text{ cm}^{-1}$ の吸収が認められず、かつ、数平均分子量が4500以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出されないことを特徴とする。

【0010】

上記本発明の脱蛋白天然ゴムは、蛋白質の含有量が窒素含有量において0.02%以下のレベルであって、赤外線吸収スペクトルにおいて $3280\text{ cm}^{-1}$ の吸収が認められないことから、従来の脱蛋白処理と同様に、天然ゴム中に含まれる総蛋白の量が高度に低減されていることが分かる。

しかも、数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4500以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出されないことから明らかなように、従来公知の方法によって脱蛋白処理を施した天然ゴムに比べて蛋白質がより高度に分解されている。それゆえ、蛋白質中の、ヒト血清に対してIgEクラスの抗体を産生させる抗原となり得る部位のほとんどが、分解処理によって消滅または変性していると考えられ、アレルギーを引き起こすおそれは極めて低い。

【0011】

本発明において、蛋白質および蛋白質分解物の検出は、通常、質量分析法によって、好ましくは飛行時間(TOF)型質量分析計と二次元表面修飾チップとを組み合わせた蛋白質の解析システム〔例えば、サイファージェン・バイオシステムズ(株)製の蛋白質構造解析装置「プロテインチップ<sup>TM</sup>システム」〕を用いて行われる。前記「プロテインチップ<sup>TM</sup>システム」によれば、天然ゴムラテックス1mL当たり0.1 $\mu\text{g}$ 程度しか存在しない微量の蛋白質についても検出することができる。

【0012】

上記本発明の脱蛋白天然ゴムは、蛋白質およびその分解物が極めて高度に分解

、除去されており、それゆえアレルギーを誘発するおそれが著しく低減されている。従って、本発明の脱蛋白天然ゴムは、手袋等の家庭用品、カテーテル等の医療用具、授乳用具、避妊具等の原料として好適である。

## 【0013】

## 【発明の実施の形態】

次に、本発明に係る脱蛋白天然ゴムについて詳細に説明する。

本発明の脱蛋白天然ゴムは、前述のように蛋白質の分解、除去処理が施された天然ゴムであって、

蛋白質の含有量が窒素含有量において0.02%以下のレベルであり、赤外線吸収スペクトルにおいて $3280\text{ cm}^{-1}$ の吸収が認められず、かつ、数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4500以上、好ましくは2000以上、さらに好ましくは1500以上である蛋白質および蛋白質分解物が観察されないことを特徴とする。

## 【0014】

さらに、上記本発明の脱蛋白天然ゴムは、ヒト血清中にIgEクラスの抗体を産生させるアレルゲン性蛋白の含有量指数が $10\text{ }\mu\text{g/g}$ 以下であるのが好ましく、 $5\text{ }\mu\text{g/g}$ 以下であるのがより好ましい。

数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4500以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出されない程度にまで蛋白質の分解処理が施されている場合には、前述のように、蛋白質中の、ヒト血清に対してIgEクラスの抗体を産生させる抗原となり得る部位が十分に分解または変性されているものと推測される。また、一般に、アレルゲン性蛋白の含有量が生ゴム1g当たり $10\text{ }\mu\text{g}$ 以下であれば、蛋白質に起因するアレルギーを生じるおそれが極めて低いと考えられる。

## 【0015】

ここで「アレルゲン性蛋白の含有量指数」とは、天然ゴムラテックス中に存在する蛋白質のうち、ヒト血清に対してIgEクラスの抗体を産生させ得る（抗原となり得る）蛋白質の含有量の程度を、一般のハイアンモニアラテックス（HAラテックス）を基準にして示した指標であって、アレルギー度を相対的に示した値である。



天然ゴムラテックス中に存在する蛋白質については、その総量と溶出蛋白質の総量とを分析によって求めることができるものの、アレルゲン性蛋白と非アレルゲン性蛋白との量を個別に定量することができない。そこで、天然ゴムラテックスのアレルギー性については、通常の天然ゴムラテックス、ここではHAラテックスを基準とするアレルギー度の相対値として評価することとなる。

【0016】

上記「アレルゲン性蛋白の含有量指数」は、Pharmacia Cap systemを用いた競合的ラスト免疫阻害法〔Competitive RAST-immunoinhibition 法, (X. Baur et Al., Allergy, 52, 661-664 (1997) 参照)〕に基づいて算出されるものであって、具体的には、以下のようにして算出される。

まず、基準サンプルとしてHAラテックス（上記文献ではノンアンモニア天然ゴムラテックス）の抽出液を使用し、これにヒト血清中のIgE抗体を混合して熟成させることにより、HAラテックス中のアレルゲン性蛋白と前記IgE抗体との抗原-抗体反応を進行させる。なお、前記IgE抗体の供給源には、ラテックスアレルギーを有する者の血清を用いる。次いで、抗原-抗体反応を起こさずに残存したIgE抗体と固相のImmuno-Capラテックス抗原とを反応させ、さらに、固定化されたIgE抗体に酵素（ $\beta$ -D-ガラクトシダーゼ）でラベルされた抗IgE抗体とを結合させて、蛍光強度の測定により残存するIgE抗体の量を測定する。この測定値により、HAラテックスの溶出蛋白質についてのアレルギー性の度合いが求められる。このアレルギー性の度合いを、上記HAラテックスの希釈度が異なる数種のサンプルについて測定して、校正曲線を作成する。一方、測定試料である天然ゴムラテックスについても上記と同様にしてアレルギー性の度合いを求める。その結果、例えばHAラテックスの溶出総蛋白量がゴム1g当たり10 $\mu$ gであるときのアレルギー度と同等であれば、測定試料についてのアレルゲン性蛋白の含有量指数が10 $\mu$ g/gとなる。

【0017】

前述のようにアレルゲン性蛋白の含有量指数が極めて低い本発明の脱蛋白天然ゴムは、蛋白質に起因するアレルゲンを実質的に含有しないものであるといえる。

上記本発明の脱蛋白天然ゴムは、従来用いられてプロテアーゼ（蛋白分解酵素）による蛋白質の分解処理と併せて、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質の分解処理を行い、さらに蛋白質およびその分解物の除去処理を行うことにより得られたものである。

## 【 0 0 1 8 】

従来の脱蛋白処理に用いられていたプロテアーゼ（蛋白分解酵素）は主にバクテリア（細菌）が産生するプロテアーゼであって、これらのプロテアーゼはアルカリ領域に至適 pH を有しており、しかもエンドペプチダーゼ活性を有するもののエキソペプチダーゼ活性を示さないものであった。従来の脱蛋白処理において、主として上記のアルカリプロテアーゼが用いられていたのは、(a) 天然ゴムのフィールドラテックスは、一旦濃縮された後、ラテックスの凝固と腐敗の防止を目的としてアンモニアを添加したいわゆるアンモニアラテックスとして供給されており、ラテックス自体がアルカリ性を示すものであったこと、(b) それゆえ、蛋白質の分解処理には、ゴム分子の凝固を避けるべく、アルカリ領域に至適 pH を有するいわゆるアルカリプロテアーゼを用いる必要があったこと、などに起因している。なお、従来の脱蛋白処理に用いられていた市販のアルカリプロテアーゼの特性を表 1 に示す。

## 【 0 0 1 9 】

【表 1】

酵素を産出した細菌 酵素の商品名	活 性		使 用 pH	使用温度 (°C)
	エンド	エキソ		
<i>Bacillus subtilis</i> バイオブラーゼ *4	◎	—	8.1~12	50~70
<i>Bacillus subtilis</i> プロレザ- FG-F *3	◎	—	8.6~12	53~67
<i>Bacillus subtilis</i> PW-102 *1	◎	—	9.0~12	30~50
<i>Bacillus subtilis</i> N「アマノ」 *3	◎	—	6.6~8.2	48~62
<i>Bacillus sp</i> サビナーゼ *2	◎	—	7.7~12	47~58
<i>Bacillus licheniformis</i> アルカラーゼ *2	◎	—	6.1~11	48~66
<i>Bacillus letus</i> エスベラーゼ *2	◎	—	7.2~10	52~65
<i>Bacillus stearothermo</i> S「アマノ」 *3	◎	—	6.6~9.5	62~77

製造元 1: 花王(株), 2: ノボノルディスクバイオインダストリー(株),  
3: 天野製薬(株), 4: ナガセ生化学(株)

活 性 ◎: 非常に高い, ○: 高い, —: 活性なし

酵素を産出した細菌の名称は、前半が属、後半が種を示す。

## 【0 0 2 0】

これに対し、本発明の脱蛋白天然ゴムは、従来用いられているアルカリプロテアーゼによる蛋白分解処理に加えて、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白分解処理を行い、さらに蛋白質およびその分解物の除去処理を行ったものであることを特徴とする。かかるプロテアーゼを用いて処理を行うことにより、意外にも、数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4500以上の蛋白質および蛋白質分解物が実質的に存在しない程度にまで蛋白質の分解を行うことができる。

## 【0 0 2 1】

〔脱蛋白天然ゴムの製造方法〕

本発明の脱蛋白天然ゴムは、天然ゴムラテックスに対して、

(1) 従来公知のプロテアーゼ（アルカリプロテアーゼ）による蛋白質の分解処理

を施し、次いで、

(2) 必要に応じてラテックスの pH を中性領域に調節し、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質の分解処理を施し、さらに、

(3) こうして得られたラテックスから蛋白質およびその分解物を除去して、ゴム分を凝集させる、

ことによって得られる。

#### 【0022】

すなわち、本発明の脱蛋白天然ゴムは次のようにして得ることができる。まず、天然ゴムラテックスのゴム固形分に対して約 0.001～10 重量%の割合で従来公知のアルカリプロテアーゼを添加し、5～90℃、好ましくは 20～60℃で、数時間～1週間程度熟成させることによって蛋白分解処理を施す。次いで、必要に応じて 0.01～10 重量%の範囲で界面活性剤を添加した後、ラテックスのゴム固形分に対して約 0.001～10 重量%の割合でエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼを添加して、5～90℃、好ましくは 20～60℃で、数時間～1週間程度熟成させることによって蛋白分解処理を施す。さらに、遠心分離等による除去処理を行う。

#### 【0023】

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼを添加する際には、後述するように、前記プロテアーゼの多くが中性領域（具体的には pH 6～9）に至適 pH を有するものであることを考慮して、あらかじめラテックスの pH を中性領域に、具体的には pH 6～9、より好ましくは pH 6.5～8.5 の範囲に調整しておくのが好ましい。ラテックスの pH を中性領域に調整するには、ラテックス中に例えばリン酸二水素ナトリウム、ホルマリン、希塩酸等を添加すればよい。

#### 【0024】

前記除去処理を遠心分離によって行う場合には、0.01～10 重量%の範囲で界面活性剤を添加した上で、常法に従って遠心分離を行えばよい。遠心分離処理の回数は 1 回で十分であるが、蛋白質およびその分解物の除去効果を高めるには、遠心分離処理を 2 回以上繰返して行ってもよい。

〔原料ラテックス〕

本発明の脱蛋白天然ゴムを得るための出発原料となる天然ゴムラテックスは、天然のゴムの木から得られたラテックスを意味し、当該ラテックスには新鮮なフィールドラテックスや、市販のアンモニア処理ラテックス等のいずれをも使用することができる。

## 【 0 0 2 5 】

## 〔プロテアーゼ〕

本発明の脱蛋白天然ゴムを製造するのに用いられる、蛋白質を分解するための酵素には、従来公知のプロテアーゼ（アルカリプロテアーゼ）と、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼとの 2 種類が挙げられる。

## （従来公知のプロテアーゼ）

従来公知のプロテアーゼとしては、特に限定されるものではないが、細菌由来のもの、糸状菌由来のもの、酵母由来のものいずれであってもよい。中でも細菌由来のプロテアーゼを使用するのが好ましい。かかる細菌由来のプロテアーゼは、一般に、アルカリ領域に至適 pH を有し、かつ、エンドペプチダーゼ活性のみを有するプロテアーゼである。

## 【 0 0 2 6 】

上記細菌由来のプロテアーゼの具体例としては、前記表 1 に記載のプロテアーゼが挙げられる。

## （エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼ）

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼは、さらにエンドペプチダーゼ活性を併せ持ったものであってもよい。エキソペプチダーゼ活性とともにエンドペプチダーゼ活性をも有することにより、蛋白質の分子量を低減させる効果や分解の効率をより一層向上させることができる。

## 【 0 0 2 7 】

上記エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼをその起源から限定するならば、前述のように、糸状菌の一種であるアスペルギルス属（*Aspergillus* ; コウジカビ属）またはリゾプス属（*Rhizopus* ; クモノスカビ属）に属する微生物が産生するものであるのが好ましい。

上記アスペルギルス属に属する微生物としては、例えばアスペルギルス・オリ

ぜ (*Aspergillus oryzae*)、アスペルギルス・メルス (*Asp. mellus*)、アスペルギルス・ニガー (*Asp. niger*)、アスペルギルス・アワモリ (*Asp. awamori*)、アスペルギルス・グラウクス (*Asp. glaucus*)、アスペルギルス・フラブス (*Asp. flavus*)、アスペルギルス・ソジャエ (*Asp. sojae*) 等が挙げられる。

【 0 0 2 8 】

また、上記リゾプス属に属する微生物としては、例えばリゾプス・オリゼ (*Rhizopus oryzae*)、リゾプス・ジャバニクス (*Rhi. javanicus*)、リゾプス・デレマー (*Rhi. delemar*)、リゾプス・ニグリカンス (*Rhi. nigricans*) 等が挙げられる。

本発明に用いられるエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼは、上記の中でも、特にアスペルギルス・オリゼ (*Asp. oryzae*)、アスペルギルス・メルス (*Asp. mellus*) またはリゾプス・オリゼ (*Rhi. oryzae*) に属する微生物が産生するものであるのが好ましい。

【 0 0 2 9 】

上記エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼについて、市販されているものの特性を示す。

【 0 0 3 0 】

【表 2】

酵素を産出した糸状菌 酵素の商品名	活 性		使 用 p H	使用温度 (°C)
	エンド	エキソ		
<i>Asperigillus oryzae</i> A「アマノ」G *3	○	○	5.4~10	46~58
<i>Asperigillus oryzae</i> M「アマノ」*3	○	◎	3.0~6.2	35~62
<i>Asperigillus oryzae</i> ウマミザイム *3	○	◎	6.2~8.2	30~60
<i>Asperigillus oryzae</i> フレーバーザイム *2	○	○	4.5~7.7	38~58
<i>Asperigillus mellus</i> P「アマノ」3 G *3	○	○	6.0~9.2	37~49
<i>Rhizopus oryzae</i> ペプチターゼ R *3	○	◎	6.2~7.4	30~50

製造元 1: 花王(株), 2: ノボルディスクバイオインダストリー(株),  
3: 天野製薬(株), 4: ナガセ生化学(株)

活 性 ◎: 非常に高い, ○: 高い, —: 活性なし

酵素を産出した細菌の名称は、前半が属、後半が種を示す。

## 【0 0 3 1】

## 〔界面活性剤〕

本発明の脱蛋白天然ゴムを製造するために蛋白質の分解処理を行う際には、前述のプロテアーゼおよびエキソペプチダーゼによる処理を施す前にまたは処理中に、安定化剤としての界面活性剤をラテックス中に添加するのが好ましい。とりわけ、アンモニア処理ラテックスの p H を中性領域に調整する場合、または蛋白質の分解処理を行う場合にあっては、ゴム分の凝固を防止する上で界面活性剤の添加が望まれる。

## 【0 0 3 2】

上記界面活性剤としては、従来公知の種々のアニオン界面活性剤、ノニオン界面活性剤およびカチオン界面活性剤が挙げられ、特に限定されるものではないが、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼの多くが中性領域（具体的には p H 6 ~ 9）に至適 p H を有するものであることから、中性領域において、具体的には p H 6 ~ 9 の範囲、より好ましくは p H 6. 5 ~ 8. 5 の範囲において安

定した界面活性を示すものを用いるのが好ましい。

#### 【0033】

以下、本発明に使用可能な界面活性剤を示す。以下に例示の界面活性剤は単独で用いるほか、2種以上を混合して用いることもできる。

##### （アニオン界面活性剤）

アニオン界面活性剤には、例えばカルボン酸系、スルホン酸系、硫酸エステル系、リン酸エステル系等が挙げられる。

カルボン酸系のアニオン界面活性剤としては、例えば炭素数が6以上、30以下である脂肪酸塩、多価カルボン酸塩、ロジン酸塩、ダイマー酸塩、ポリマー酸塩、トール油脂肪酸塩などが挙げられ、中でも炭素数10～20のカルボン酸塩が好適である。炭素数が6を下回ると蛋白質および不純物の分散・乳化作用が不十分となるおそれがあり、炭素数が30を超えると水に分散させにくくなるおそれがある。

#### 【0034】

スルホン酸系のアニオン界面活性剤としては、例えばアルキルベンゼンスルホン酸塩、アルキルスルホン酸塩、アルキルナフタレンスルホン酸塩、ナフタレンスルホン酸塩、ジフェニルエーテルスルホン酸塩等が挙げられる。

硫酸エステル系界面活性剤としては、例えばアルキル硫酸エステル塩、ポリオキシアルキレンアルキル硫酸エステル塩、ポリオキシアルキレンアルキルフェニルエーテル硫酸塩、トリスチレン化フェノール硫酸エステル塩、ポリオキシアルキレンジスチレン化フェノール硫酸エステル塩等が挙げられる。

#### 【0035】

リン酸エステル系のアニオン界面活性剤としては、アルキルリン酸エステル塩、ポリオキシアルキレンリン酸エステル塩等が挙げられる。

これらの化合物の塩としては、金属塩（Na, K, Ca, Mg, Zn等）、アンモニア塩、アミン塩（トリエタノールアミン塩等）などが挙げられる。

##### （ノニオン界面活性剤）

ノニオン界面活性剤には、例えばポリオキシアルキレンエーテル系、ポリオキシアルキレンエステル系、多価アルコール脂肪酸エステル系、糖脂肪酸エステル



系、アルキルポリグリコシド系等が挙げられる。

【0036】

ポリオキシアルキレンエーテル系のノニオン界面活性剤としては、例えばポリオキシアルキレンアルキルエーテル、ポリオキシアルキレンアルキルフェニルエーテル、ポリオキシアルキレンポリオールアルキルエーテル、ポリオキシアルキレンスチレン化フェノールエーテル、ポリオキシアルキレンジスチレン化フェノールエーテル、ポリオキシアルキレントリスチレン化フェノールエーテル等が挙げられる。前記ポリオールとしては炭素数2～12の多価アルコールが挙げられ、例えばプロピレングリコール、グリセリン、ソルビトール、シュクロース、ペンタエリトリトール、ソルビタン等が挙げられる。

【0037】

ポリオキシアルキレンエステル系のノニオン界面活性剤としては、例えばポリオキシアルキレン脂肪酸エステル等が挙げられる。

多価アルコール脂肪酸エステル系のノニオン界面活性剤としては、炭素数2～12の多価アルコールの脂肪酸エステルまたはポリオキシアルキレン多価アルコールの脂肪酸エステルが挙げられる。より具体的には、例えばソルビトール脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、脂肪酸モノグリセライド、脂肪酸ジグリセライド、ポリグリセリン脂肪酸エステル等が挙げられる。また、これらのポリアルキレンオキサイド付加物（例えばポリオキシアルキレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシアルキレングリセリン脂肪酸エステル等）も使用可能である。

糖脂肪酸エステル系のノニオン界面活性剤としては、例えばショ糖、グルコース、マルトース、フラクトース、多糖類の脂肪酸エステル等が挙げられ、これらのポリアルキレンオキサイド付加物も使用可能である。

【0038】

アルキルポリグリコシド系のノニオン界面活性剤としては、例えばアルキルグルコシド、アルキルポリグルコシド、ポリオキシアルキレンアルキルグルコシド、ポリオキシアルキレンアルキルポリグルコシド等が挙げられ、これらの脂肪酸エステル類も挙げられる。また、これらのポリアルキレンオキサイド付加物も使

用可能である。

これらのノニオン界面活性剤におけるアルキル基としては、例えば炭素数 4 ～ 3 0 のアルキル基が挙げられる。また、ポリオキシアルキレン基としては、炭素数 2 ～ 4 のアルキレン基を有するものが挙げられ、例えば酸化エチレンの付加モル数が 1 ～ 5 0 モル程度のものが挙げられる。前記脂肪酸としては、例えば炭素数が 4 ～ 3 0 の直鎖または分岐した飽和または不飽和の脂肪酸が挙げられる。

#### 【 0 0 3 9 】

(カチオン界面活性剤)

カチオン界面活性剤には、例えばアルキルアミン塩型、アルキルアミン誘導体型およびそれらの第 4 級化物、ならびにイミダゾリニウム塩型等が挙げられる。

アルキルアミン塩型のカチオン界面活性剤としては、第 1 級アミン、第 2 級アミンおよび第 3 級アミンの塩が挙げられる。

アルキルアミン誘導体型のカチオン界面活性剤は、エステル基、エーテル基、アミド基のうちの少なくとも 1 つを分子内に有するものであって、例えばポリオキシアルキレン (A O) アルキルアミンおよびその塩、アルキルエステルアミン (A O 付加物を含む) およびその塩、アルキルエーテルアミン (A O 付加物を含む) およびその塩、アルキルアミドアミン (A O 付加物を含む) およびその塩、アルキルエステルアミドアミン (A O 付加物を含む) およびその塩、アルキルエーテルアミドアミン (A O 付加物を含む) およびその塩等が挙げられる。

#### 【 0 0 4 0 】

前記塩の種類としては、例えば塩酸塩、リン酸塩、酢酸塩、アルキル硫酸エステル、アルキルベンゼンスルホン酸、アルキルナフタレンスルホン酸、脂肪酸、有機酸、アルキルリン酸エステル、アルキルエーテルカルボン酸、アルキルアミドエーテルカルボン酸、アニオン性オリゴマー、アニオン性ポリマー等が挙げられる。アルキルアミン誘導体型カチオン界面活性剤のうち、酢酸塩の具体例としては、例えばココナットアミンアセテート、ステアリルアミンアセテート等が挙げられる。上記アルキルアミン塩型およびアルキルアミン誘導体型カチオン界面活性剤におけるアルキル基は特に限定されるものではないが、通常炭素数 8 ～ 2 2 の、直鎖状、分岐鎖状またはゲルベ状のものが挙げられる。

## 【 0 0 4 1 】

上記アルキルアミン塩型およびアルキルアミン誘導体型カチオン界面活性剤の第4級化物としては、上記アルキルアミン塩およびアルキルアミン誘導体を、例えばメチルクロライド、メチルブロマイド、ジメチル硫酸、ジエチル硫酸等で第4級化したものが挙げられる。具体的には、ラウリルトリメチルアンモニウムハライド、セチルトリメチルアンモニウムハライド、ステアリルトリメチルアンモニウムハライド等のアルキルトリメチルアンモニウムハライド；ジステアリルジメチルアンモニウムハライド等のジアルキルジメチルアンモニウムハライド；トリアルキルメチルアンモニウムハライド；ジアルキルベンジルメチルアンモニウムハライド；アルキルベンジルジメチルアンモニウムハライド等が挙げられる。

## 【 0 0 4 2 】

イミダゾリニウム塩型のカチオン界面活性には、例えば2-ヘプタデセニルヒドロキシルエチルイミダゾリン等が挙げられる。

上記例示の界面活性剤の中でも、特に、pHが6.5～8.5の範囲において安定した界面活性を示すものとしては、例えば、ノニオン界面活性剤であるポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル、アニオン界面活性剤であるポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル硫酸ナトリウム等が挙げられる。

## 【 0 0 4 3 】

## 〔他の添加剤〕

本発明の天然ゴムの製造方法においては、上記例示の各成分のほかにも、必要に応じて他の添加剤を配合することができる。

かかる他の添加剤としては、例えばpH調整剤としての、リン酸第一カリウム、リン酸第二カリウム、リン酸ナトリウム等のリン酸塩；酢酸カリウム、酢酸ナトリウム等の酢酸塩；硫酸、酢酸、塩酸、硝酸、クエン酸、コハク酸等の酸類またはその塩；アンモニア、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム等が挙げられる。また、酵素としての、リパーゼ、エステラーゼ、アミラーゼ、ラッカーゼ、セルラーゼ等が挙げられる。さらに、分散剤としての、スチレンスルホン酸共重合体、ナフタレンスルホン酸ホルマリン縮合物、リグニンスルホン酸、多環式芳香族スルホン酸共重合体、アクリル酸および

無水マレイン酸のホモポリマー／共重合物、イソブチレンーアクリル酸、イソブチレンー無水マレイン酸共重合物等が挙げられる。

【0044】

【実施例】

次に、実施例および比較例を挙げて本発明の脱蛋白天然ゴムについて説明する。

以下の実施例および比較例において、天然ゴムラテックスには、マレーシア国産のフィールドラテックス、またはソクテック（マレーシア国）社製のハイアンモニアラテックス〔ゴム分濃度 60.2 重量%、アンモニア分 0.7%〕を使用した。

【0045】

界面活性剤には、ノニオン界面活性剤として東邦化学工業（株）製の商品名「T r i t o n X-100」を、それぞれ使用した。

〔脱蛋白天然ゴムの製造〕

実施例 1

（アルカリプロテアーゼによる蛋白質分解）

フィールドラテックスのゴム分 100 重量部に対してノニオン界面活性剤 1.0 重量部と 0.12% のナフテン酸ソーダとを添加し、ラテックスを安定化させた。次いで、このラテックスのゴム分 100 重量部に対してアルカリプロテアーゼ 0.1 重量部を添加し、30℃で 24 時間静置することによって熟成させた。

【0046】

前記アルカリプロテアーゼには、バクテリア由来のプロテアーゼであって、バチルス属のバクテリアの一種である *Bacillus licheniformis* に属する微生物が産生するプロテアーゼ〔ノボノルディスクバイオインダストリー（株）製の商品名「アルカラーゼ 2.0M」〕を使用した。このアルカリプロテアーゼは、力価が 2.0 AU/g（pH 8.3）であって、表 1 に示したように、アルカリ領域に至適 pH を有しており、かつエンドペプチダーゼ活性を有するもののエキソペプチダーゼ活性を有しないものである。

【0047】

(エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質分解)

次に、熟成後のラテックスに5%リン酸二水素ナトリウム水溶液を添加してそのpHを7.0に調整し、当該ラテックスのゴム分100重量部に対して、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼ0.1重量部を添加した。前記プロテアーゼの添加後、ラテックスを30℃で24時間静置して再び熟成させた。

前記プロテアーゼには、エキソペプチダーゼ活性およびエンドペプチダーゼ活性を有しかつ中性領域に至適pHを有するものであって、アスペルギルス・オリゼ (*Aspergillus oryzae*) に属する微生物が産生するプロテアーゼ〔天野製薬(株)製の商品名「ウマミザイム」〕を使用した(表2参照)。このプロテアーゼは、ペプチダーゼ活性が70u/g以上(pH7.0, LGG (L-Leucyl-Glycyl-Glycine) 法)であった。

【0048】

(蛋白質およびその分解物の除去)

酵素処理を完了したラテックスをノニオン界面活性剤の1%水溶液で希釈し、当該ラテックスのゴム分の濃度を10%にした後、13000rpmで30分間遠心分離処理を施した。こうして分離した上層のクリーム分に対して、再度の希釈と2回目の遠心分離処理を上記と同様にして行った。

さらに、得られたクリーム分を水に再分散させることによって、脱蛋白天然ゴムラテックスを得た。また、前記脱蛋白天然ゴムラテックスを凝固、乾燥させることにより、脱蛋白天然ゴムを得た。

【0049】

## 実施例2

(アルカリプロテアーゼによる蛋白質分解)

ハイアンモニアラテックス(以下、「HAラテックス」という。)をゴム分の濃度が30重量%となるように希釈した後、このラテックスのゴム分100重量部に対してノニオン界面活性剤1.0重量部と0.12%のナフテン酸ソーダとを添加し、ラテックスを安定化させた。次いで、このラテックスのゴム分100重量部に対してアルカリプロテアーゼ(前出の「アルカラーゼ2.0M」)0.1重量部を添加し、30℃で24時間静置することによって熟成させた。

【0 0 5 0】

(エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質分解)

次に、熟成後のラテックスに5%リン酸二水素ナトリウム水溶液を添加してそのpHを7.0に調整し、当該ラテックスのゴム分100重量部に対して、エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼ(前出の「ウマミザイム」)0.1重量部を添加した。前記プロテアーゼの添加後、ラテックスを30℃で24時間静置して再び熟成させた。

【0 0 5 1】

(蛋白質およびその分解物の除去)

酵素処理を完了したラテックスをノニオン界面活性剤の1%水溶液で希釈し、当該ラテックスのゴム分の濃度を10%にした後、13000rpmで30分間遠心分離処理を施した。

こうして分離した上層のクリーム分に対して、再度の希釈と2回目の遠心分離処理を上記と同様にして行った。

【0 0 5 2】

さらに、得られたクリーム分を水に再分散させることによって、脱蛋白天然ゴムラテックスを得た。また、前記脱蛋白天然ゴムラテックスを凝固、乾燥させることにより、脱蛋白天然ゴムを得た。

実施例3

(アルカリプロテアーゼによる蛋白質分解)

実施例1の「アルカリプロテアーゼによる蛋白質分解」と同様にして、フィールドラテックス中の蛋白質をアルカリプロテアーゼ(前出の「アルカラーゼ2.0M」)によって分解した。

【0 0 5 3】

(エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質分解)

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼとして、前出の「ウマミザイム」に代えてアスペルギルス・メルス(*Aspergillus mellus*)に属する微生物が産生するプロテアーゼ〔天野製薬(株)製の商品名「P「アマノ」3G」〕を使用し、その添加量をラテックスのゴム分100重量部に対して0.1重量部とした

ほかは、実施例 1 の「エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質分解」と同様にして蛋白質の分解処理を行った。

【0054】

前記プロテアーゼ「P「アマノ」3G」は、蛋白消化力が10000u/g以上(pH7.0, 天野法)であって、表2に示したように、エキソペプチダーゼ活性およびエンドペプチダーゼ活性を有しかつ中性領域に至適pHを有するプロテアーゼである。

(蛋白質およびその分解物の除去)

上記プロテアーゼ「P「アマノ」3G」による酵素処理を完了したラテックスを用いたほかは、実施例1の「蛋白質およびその分解物の除去」と同様にして遠心分離処理を行い、脱蛋白天然ゴムラテックスおよび脱蛋白天然ゴムを得た。

【0055】

実施例4

(アルカリプロテアーゼによる蛋白質分解)

実施例2の「アルカリプロテアーゼによる蛋白質分解」と同様にして、HAラテックス中の蛋白質をアルカリプロテアーゼ(前出の「アルカラーゼ2.0M」)によって分解した。

(エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質分解)

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼとして、前出の「ウミザイム」に代えて前出の「P「アマノ」3G」を使用し、その添加量をラテックスのゴム分100重量部に対して0.1重量部としたほかは、実施例2の「エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質分解」と同様にして蛋白質の分解処理を行った。

【0056】

(蛋白質およびその分解物の除去)

上記プロテアーゼ「P「アマノ」3G」による酵素処理を完了したラテックスを用いたほかは、実施例2の「蛋白質およびその分解物の除去」と同様にして遠心分離処理を行い、脱蛋白天然ゴムラテックスおよび脱蛋白天然ゴムを得た。

実施例5

(アルカリプロテアーゼによる蛋白質分解)

実施例 1 の「アルカリプロテアーゼによる蛋白質分解」と同様にして、フィードラテックス中の蛋白質をアルカリプロテアーゼ（前出の「アルカラーゼ 2. 0 M」）によって分解した。

【0 0 5 7】

(エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質分解)

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼとして、前出の「ウマミザイム」に代えてリゾプス・オリゼ (*Rhizopus oryzae*) に属する微生物が産生するプロテアーゼ〔天野製薬(株)製の商品名「ペプチダーゼ R」〕を使用し、その添加量をラテックスのゴム分 1 0 0 重量部に対して 0. 1 重量部としたほかは、実施例 1 の「エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質分解」と同様にして蛋白質の分解処理を行った。

【0 0 5 8】

前記プロテアーゼ「ペプチダーゼ R」は、ペプチダーゼ活性が 4 2 0 u / g 以上 (p H 7. 0, L G G 法) であって、表 2 に示したように、エキソペプチダーゼ活性およびエンドペプチダーゼ活性を有しかつ中性領域に至適 p H を有するプロテアーゼである。

(蛋白質およびその分解物の除去)

上記プロテアーゼ「ペプチダーゼ R」による酵素処理を完了したラテックスを用いたほかは、実施例 1 の「蛋白質およびその分解物の除去」と同様にして遠心分離処理を行い、脱蛋白天然ゴムラテックスおよび脱蛋白天然ゴムを得た。

【0 0 5 9】

実施例 6

(アルカリプロテアーゼによる蛋白質分解)

実施例 2 の「アルカリプロテアーゼによる蛋白質分解」と同様にして、H A ラテックス中の蛋白質をアルカリプロテアーゼ（前出の「アルカラーゼ 2. 0 M」）によって分解した。

(エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質分解)

エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼとして、前出の「ウマミザイム



」に代えて前出の「ペプチダーゼR」)を使用し、その添加量をラテックスのゴム分100重量部に対して0.1重量部としたほかは、実施例2の「エキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる蛋白質分解」と同様にして蛋白質の分解処理を行った。

## 【0060】

(蛋白質およびその分解物の除去)

上記プロテアーゼ「ペプチダーゼR」による酵素処理を完了したラテックスを用いたほかは、実施例2の「蛋白質およびその分解物の除去」と同様にして遠心分離処理を行い、脱蛋白天然ゴムラテックスおよび脱蛋白天然ゴムを得た。

## 比較例1

特許第2905005号に記載の方法に従って、脱蛋白天然ゴムを作製した。

## 【0061】

すなわち、まず、HAラテックスをゴム分の濃度が30重量%になるように希釈し、当該ラテックスのゴム分100重量部に対してアルカリプロテアーゼ0.1重量部と、ノニオン界面活性剤1.0重量部と、0.12%のナフテン酸ソーダとを添加して安定化させた。

前記アルカリプロテアーゼには、バクテリア由来のプロテアーゼであって、バチルス属のバクテリアの一種である*Bacillus licheniformis*に属する微生物が産生するプロテアーゼ〔ノボノルディスクバイオインダストリー(株)製の商品名「アルカラーゼ2.0M」〕を使用した。このアルカリプロテアーゼは力価が2.0AU/g(pH8.3)であって、表1に示したように、アルカリ領域に適pHを有しており、かつエンドペプチダーゼ活性を有するもののエキソペプチダーゼ活性を有しないものである。

## 【0062】

次いで、リン酸二水素ナトリウムによってpHを9.2に調整した後、30℃で24時間静置することによって熟成させた。

熟成後、酵素処理を完了したラテックスをノニオン界面活性剤の1%水溶液で希釈し、当該ラテックスのゴム分の濃度を10%にした後、13000rpmで30分間遠心分離処理を施した。こうして分離した上層のクリーム分に対して、

再度の希釈と2回目の遠心分離処理を上記と同様にして行った。

【0063】

さらに、得られたクリーム分を水に再分散させることによって、脱蛋白天然ゴムラテックスを得た。また、前記クリーム分を凝固、乾燥させることにより、脱蛋白天然ゴムを得た。

〔蛋白質分解処理の評価〕

（窒素含有量の測定）

上記実施例および比較例において、遠心分離処理後に生じたクリーム分を水に再分散させたラテックスを使用し、このラテックスをガラスプレート上に流延してキャストフィルムを作製した。

【0064】

これらのキャストフィルムを窒素含有率測定用のサンプルとした。

また、蛋白分解処理および洗浄処理を施していないHAラテックスから直接キャストフィルムを作成して、これを対照のサンプルとした。

実施例、比較例および対照の各サンプルについて、その窒素含有量（N%）をRRIM試験法（Rubber Research Institute of Malaysia(1973). 'SMR Bulletin No.7'）によって測定した。

【0065】

窒素含有量（N%）の測定結果を表3に示す。

（アレルゲン性蛋白の含有量指数の測定）

ラスト阻害法（RAST-inhibition 法）に基づいて、上記実施例および比較例で得られた天然ゴムラテックスに含まれるアレルゲン性蛋白の含有量指数を測定した。「アレルゲン性蛋白の含有量指数」の測定は、前述のPharmacia Cap systemを用いた競合的免疫阻害法により、ドイツB G F A（職業医療研究所）にて実施した。

【0066】

一方、測定試料となる上記実施例および比較例で得られた脱蛋白天然ゴムラテックスについても、上記と同様にして残存抗体量の定量を行い、それぞれについてのアレルゲン性蛋白の含有量指数を算出した。

アレルギー性蛋白の含有量指数の測定結果を表3に示す。

【0067】

【表3】

ラテックスの種類	蛋白質分解処理		窒素含有量(N%)	アレルギー性蛋白の含有量指数
	プロテアーゼの種類	添加量(重量部)		
実施例 1	フィールドラテックス	1) アルカララーゼ 2.0M 2) ウマミザイム	0.018	2.1 $\mu\text{g/g}$
実施例 2	HA ラテックス	1) アルカララーゼ 2.0M 2) ウマミザイム	0.012	n.d.
実施例 3	フィールドラテックス	1) アルカララーゼ 2.0M 2) P「アマノ」J3G	0.017	n.d.
実施例 4	HA ラテックス	1) アルカララーゼ 2.0M 2) P「アマノ」J3G	0.011	n.d.
実施例 5	フィールドラテックス	1) アルカララーゼ 2.0M 2) ペプチダーゼ R	0.018	n.d.
実施例 6	HA ラテックス	1) アルカララーゼ 2.0M 2) ペプチダーゼ R	0.011	n.d.
比較例 1	HA ラテックス	アルカララーゼ 2.0M	0.012	11.1 $\mu\text{g/g}$
対 照	HA ラテックス	—	0.334	1060 $\mu\text{g/g}$

\*:蛋白質分解処理の欄の 1), 2)は、1) がアルカリプロテアーゼによる処理時、

2) がエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼによる処理時をそれぞれ示す。

\*:プロテアーゼの添加量(重量部)は、ラテックスのゴム分 100 重量部に対する値である。

\*: n.d. は検出限界 (2  $\mu\text{g/g}$ ) 以下であることを示す。

## 【0068】

表3より明らかなように、実施例1～6の脱蛋白天然ゴムは、比較例1の脱蛋白天然ゴムと比べて窒素含有量(N%)が同程度であるものの、アレルゲン性蛋白の含有量指数が著しく低く、それゆえ蛋白質に起因するアレルギーを誘発するおそれが著しく低減されていることがわかった。特に、実施例2～6では、アレルゲン性蛋白を検出できない程度にまで脱蛋白されていることがわかった。

## (赤外線吸収スペクトルの測定)

実施例1および比較例1で得られた脱蛋白天然ゴムラテックスをそれぞれ36g取り出して、18cm×12cmのガラス板上に流延し、室温に放置して乾燥させた。次いで、これをガラス板から剥がして、ガラス面に接していた面を一日乾燥させた。さらに真空化で乾燥することにより、赤外線吸収スペクトル測定用の生ゴムフィルムを得た。

## 【0069】

次に、KBr板上に前記フィルムを載置し、JASCO 5300フーリエ変換赤外線分光器によって吸光度を測定した。

その結果、実施例1および比較例1のラテックスから作成されたいずれの試料についても、 $3280\text{ cm}^{-1}$ におけるポリペプチドの吸収を検出することはできなかった。

## (蛋白質の分子量分析)

上記実施例1～4と、比較例1で得られた天然ゴムラテックスについて、飛行時間(TOF)型質量分析計と二次元表面修飾チップとを組み合わせた蛋白質の解析システム[サイファージェン・バイオシステムズ(株)製の蛋白質構造解析装置「プロテインチップ<sup>TM</sup>システム」]により、数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4500～4700の範囲を中心にして不純物の有無を分析した。

## 【0070】

上記「プロテインチップ<sup>TM</sup>システム」による蛋白質の分子量分析は、次のようにして行った。(1)まず、天然ゴムラテックスの漿液のサンプルをチップ上に吸着させ、次いで(2)吸着した蛋白質のみが残存するように洗浄用の緩衝液(washing buffer)で洗浄し、(3)吸着蛋白質上にエネルギー吸収物質を塗布し、さら

に(4) レーザーを照射してチップ上の蛋白質をイオン化した上で、(5) T O F型質量分析器を用いて分子量を測定した。

【0 0 7 1】

残存する蛋白質および蛋白質分解物についての数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の分析結果については、実施例1の脱蛋白天然ゴムラテックスから得られた試料についての測定結果を図1に、実施例2の脱蛋白天然ゴムラテックスから得られた試料についての測定結果を図3に、実施例3の脱蛋白天然ゴムラテックスから得られた試料についての測定結果を図2に、実施例4の脱蛋白天然ゴムラテックスから得られた試料についての測定結果を図4に、比較例1の、従来の酵素を用いた処理による脱蛋白天然ゴムラテックスから得られた試料についての測定結果を図5に、それぞれ示す。

【0 0 7 2】

また、対照として、蛋白分解処理および洗浄処理を施していないH Aラテックスから得られた試料について分子量分析を行った。その測定結果を図6に示す。

上記分子量分析の測定結果より明らかなように、比較例1(図5)では数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が約4 7 0 0のところ(蛋白質の存在を示す箇所)にピークが存在していた。これに対し、実施例1(図1)および実施例3(図2)では数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が2 0 0 0以上の領域で、実施例2(図3)および実施例4(図4)では数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ が4 5 0 0以上の領域で、それぞれピークが見られなかった。

【図面の簡単な説明】

【図1】

実施例1で得られた脱蛋白天然ゴムラテックスについての、残存する蛋白質および蛋白質分解物の数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の測定結果を示すチャート図である。

【図2】

実施例3で得られた脱蛋白天然ゴムラテックスについての、残存する蛋白質および蛋白質分解物の数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の測定結果を示すチャート図である。

【図3】

実施例2で得られた脱蛋白天然ゴムラテックスについての、残存する蛋白質お

よび蛋白質分解物の数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の測定結果を示すチャート図である。

【図 4】

実施例 4 で得られた脱蛋白天然ゴムラテックスについての、残存する蛋白質および蛋白質分解物の数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の測定結果を示すチャート図である。

【図 5】

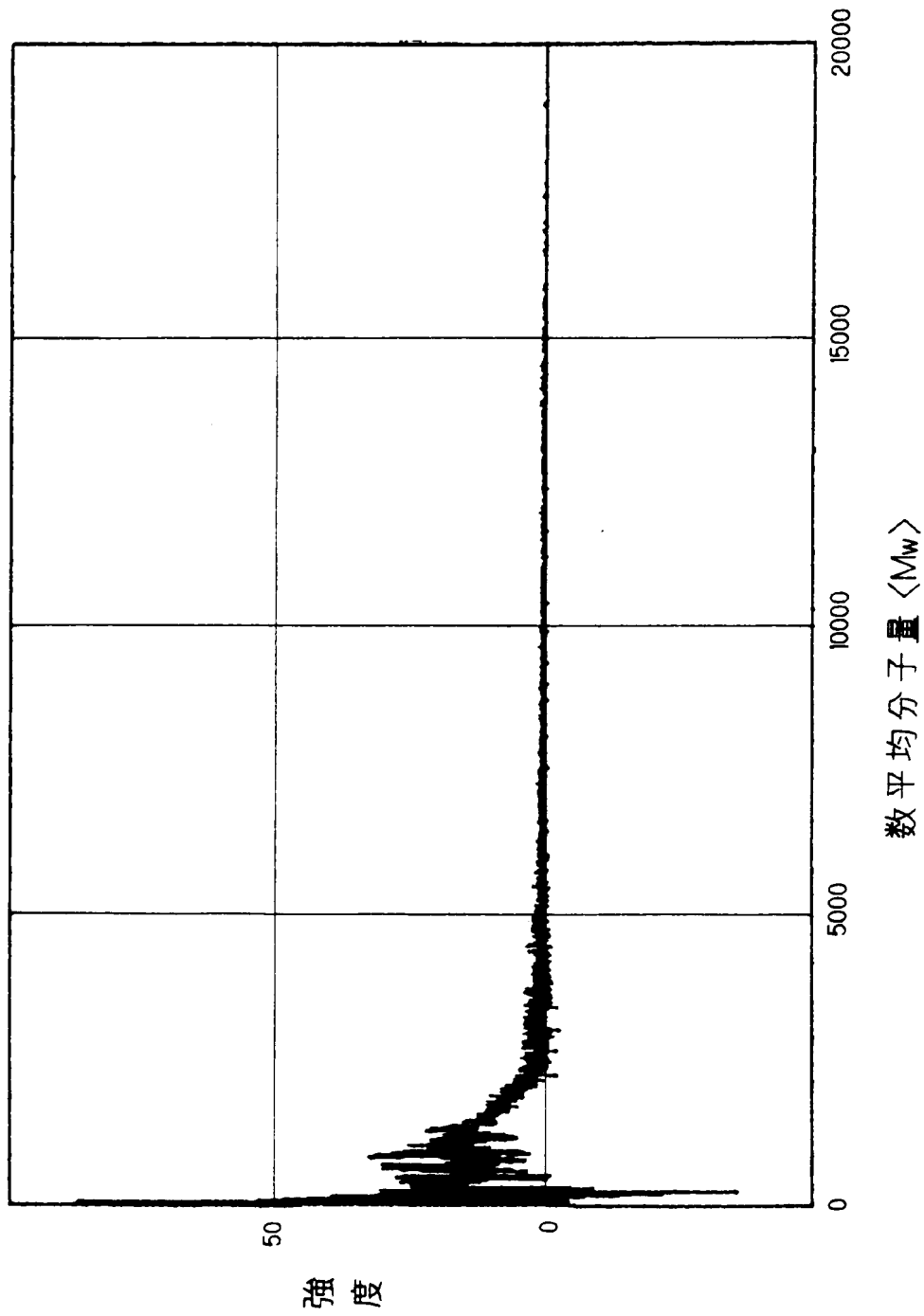
比較例 1 で得られた脱蛋白天然ゴムラテックスについての、残存する蛋白質および蛋白質分解物の数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の測定結果を示すチャート図である。

【図 6】

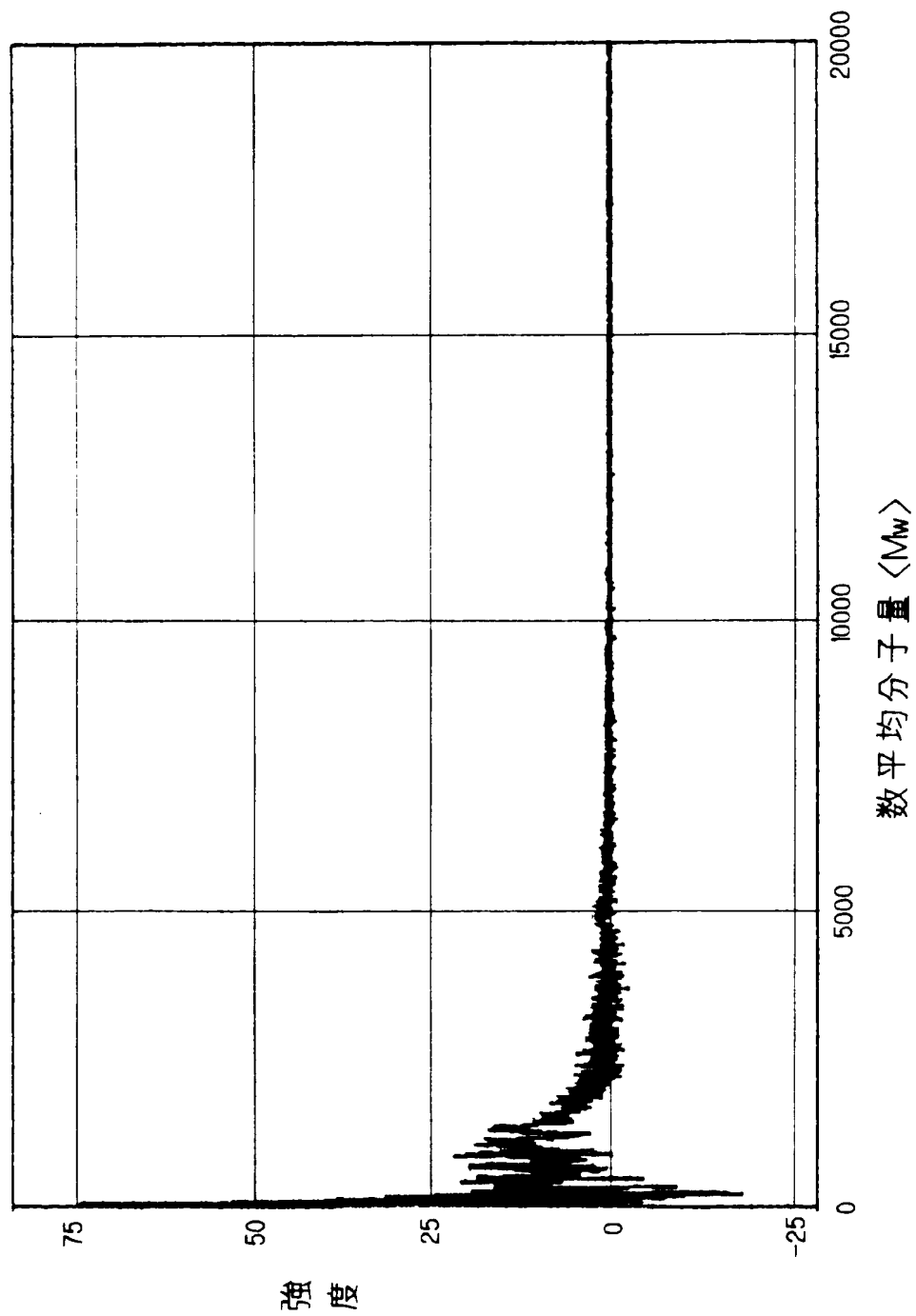
ハイアンモニア処理ラテックス中に存在する蛋白質についての数平均分子量 $\langle M_n \rangle$ の測定結果を示すチャート図である。

【書類名】 図面

【図 1】

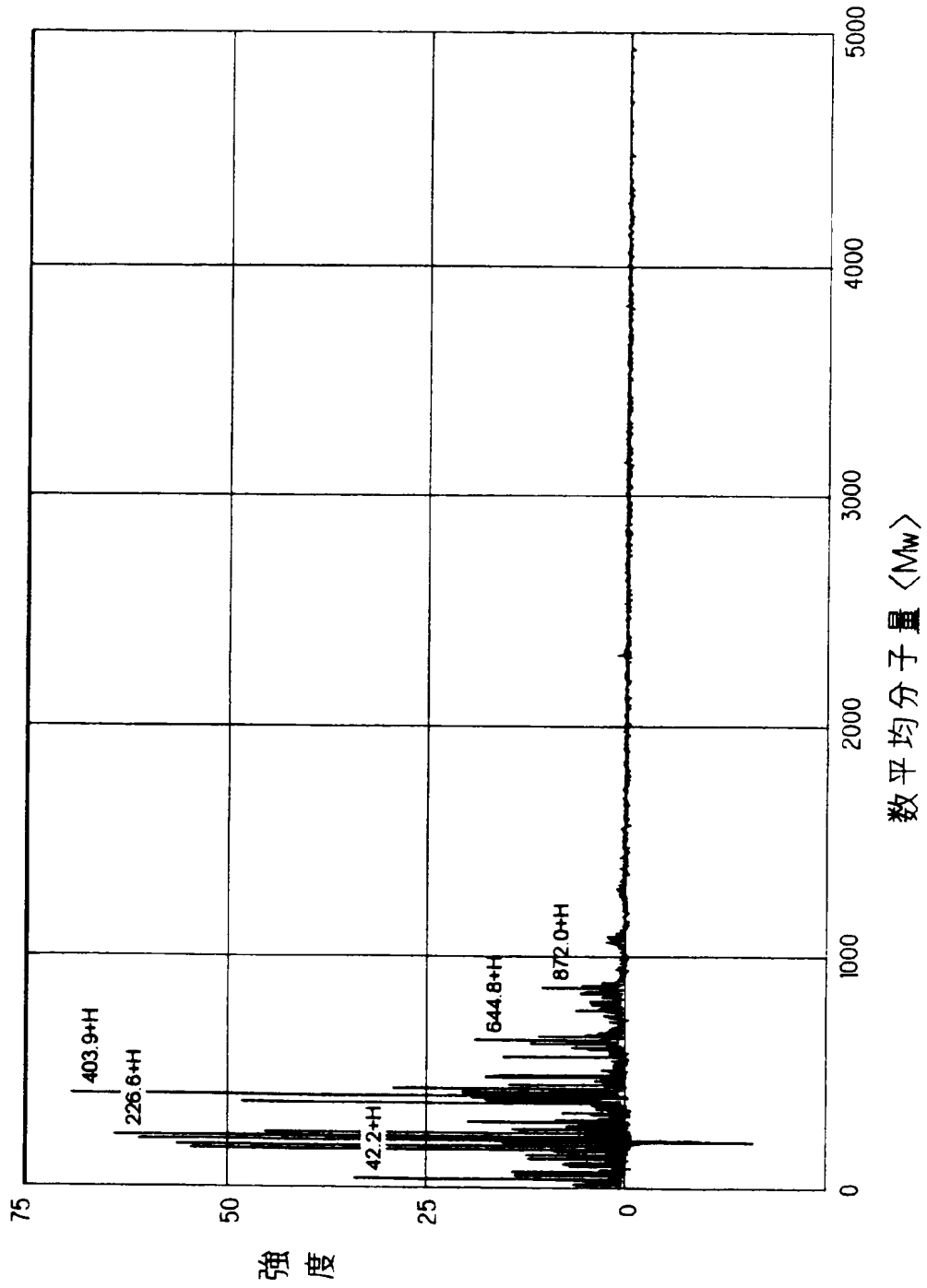


【図 2】

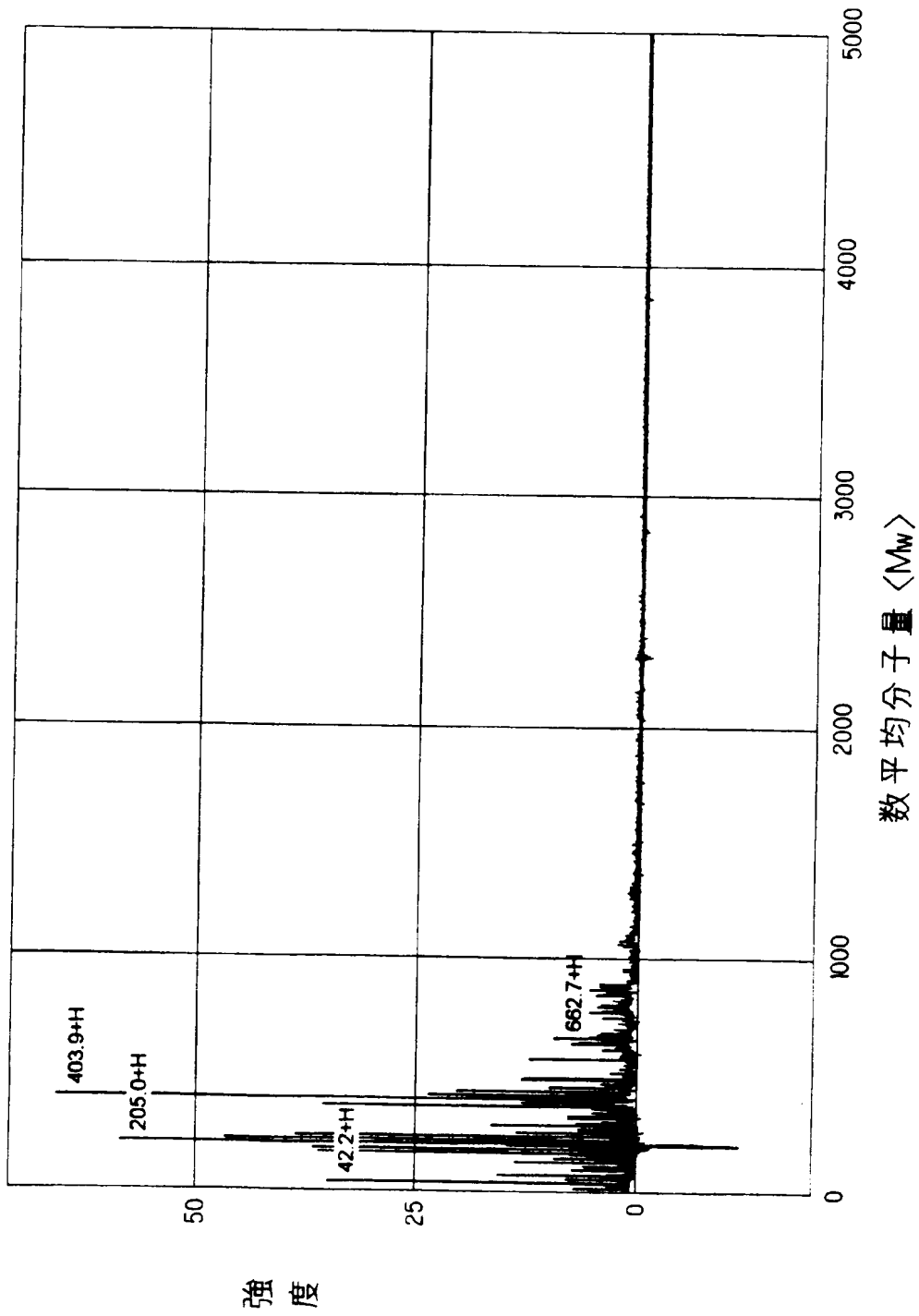




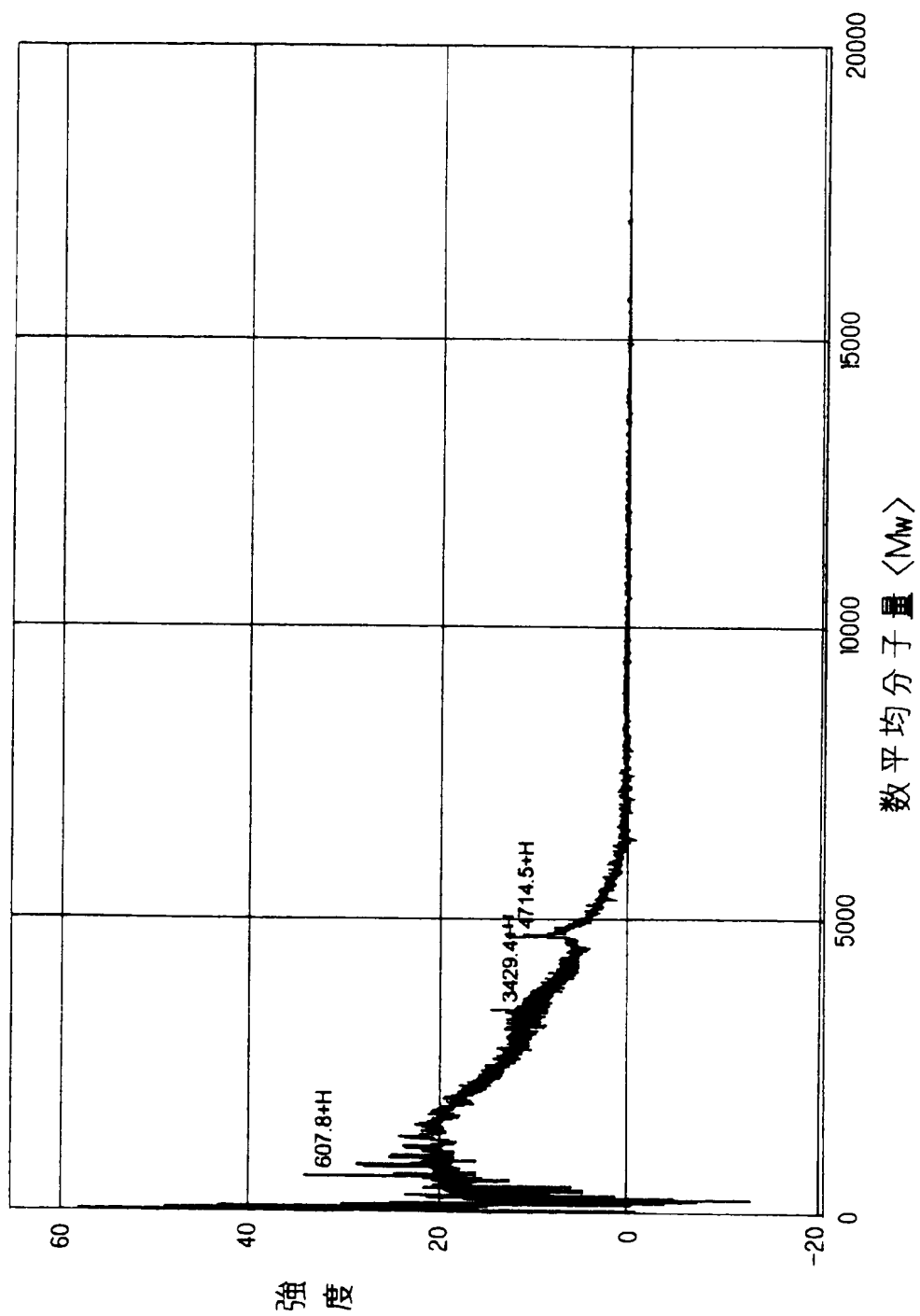
【図 3】



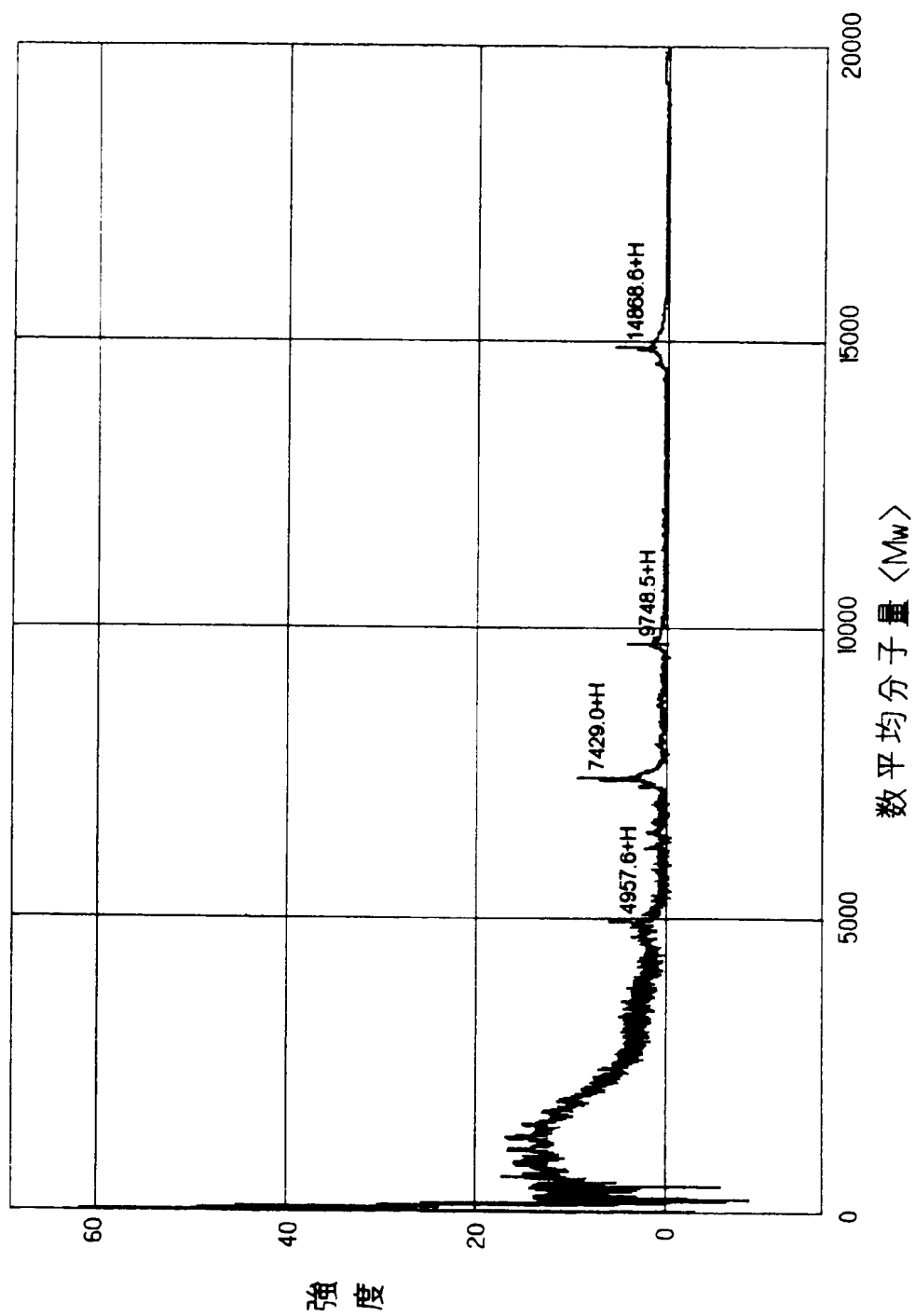
【図 4】



【図 5】



【図 6】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 アレルギーを誘発するおそれの極めて低い脱蛋白天然ゴムを提供する。

【解決手段】 本発明の脱蛋白天然ゴムは、蛋白質の分解、除去処理が施された天然ゴムであって、蛋白質の含有量が窒素含有率において 0.02%以下のレベルであり、赤外線吸収スペクトルにおいて  $3280\text{ cm}^{-1}$  の吸収が認められず、かつ、数平均分子量が 4500 以上である蛋白質および蛋白質分解物が検出されないことを特徴とする。かかる脱蛋白天然ゴムは、天然ゴムにアルカリプロテアーゼとエキソペプチダーゼ活性を有するプロテアーゼとによる蛋白質の分解処理を施し、さらに蛋白質およびその分解物の除去処理を施すことによって得られる。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 0 - 3 4 0 7 3 1
受付番号	5 0 0 0 1 4 4 3 9 0 7
書類名	特許願
担当官	兼崎 貞雄 6 9 9 6
作成日	平成 1 2 年 1 1 月 1 0 日

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】	000183233
【住所又は居所】	兵庫県神戸市中央区脇浜町 3 丁目 6 番 9 号
【氏名又は名称】	住友ゴム工業株式会社

【特許出願人】

【識別番号】	000000918
【住所又は居所】	東京都中央区日本橋茅場町 1 丁目 1 4 番 1 0 号
【氏名又は名称】	花王株式会社

【代理人】

申請人

【識別番号】	100075155
【住所又は居所】	大阪府中央区南本町 4 丁目 5 番 2 0 号 住宅金融 公庫・住友生命ビル あい特許事務所
【氏名又は名称】	亀井 弘勝

【選任した代理人】

【識別番号】	100087701
【住所又は居所】	大阪府中央区南本町 4 丁目 5 番 2 0 号 住宅金融 公庫・住友生命ビル あい特許事務所
【氏名又は名称】	稲岡 耕作

【選任した代理人】

【識別番号】	100101328
【住所又は居所】	大阪府中央区南本町 4 丁目 5 番 2 0 号 住宅金融 公庫・住友生命ビル あい特許事務所
【氏名又は名称】	川崎 実夫

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000183233]

1. 変更年月日 1994年 8月17日

[変更理由] 住所変更

住 所 兵庫県神戸市中央区脇浜町3丁目6番9号

氏 名 住友ゴム工業株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000000918]

1. 変更年月日 1990年 8月24日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都中央区日本橋茅場町1丁目14番10号

氏 名 花王株式会社